

Kh. Syamsu', Ch. Pandji, dan E. R. Lumbanraja

**PENGARUH PENAMBAHAN POLIOKSIETILEN-(20)-SORBITAN MONOLAUROT  
PADA KARAKTERISTIK BIOPLASTIK POLI-HIDROKSIALKANOAT (PHA)  
YANG DIHASILKAN *Ralstonia eutropha* PADA SUBSTRAT HIDROLISAT PATI SAGU**

Khaswar Syamsu', Chilwan Pandji, dan Eva Rosalina Lumbanraja

Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian - IPB

**ABSTRACT**

*Poly-hydroxyalkanoates (PHA) were blended in solution with Polyoxyethylene-(20)-sorbitan monolaurate (Tween20). In presence of Tween20 component, it caused some polymer interaction between PHA and Tween20 component. Shifting of density, tensile strength and elongation at break was observed for PHA/Tween20 blend. Improvement in elongation at break was drastic in case of PHA blend with 5% Tween20. The addition of Tween20 can reduce PHA melting point and degree of crystallinity. The amount of crystalline was lower for PHA/Tween20 blend than PHA without Tween20 component. FTIR analysis proved that the alteration of PHA characteristic was caused by hydrogen bonding between PHA and Tween20 molecules. The highest blending performance based on its flexibility was showed by PHA blend with 5% Tween20.*

**Keywords :** *Bioplastic, polyhydroxyalkanoates, Ralstonia eutropha, Tween20*

**PENDAHULUAN**

Saat ini perkembangan bioplastik (*polimer biodegradabel*) sedang mendapat perhatian dalam usaha untuk mengatasi masalah pencemaran yang disebabkan oleh penggunaan plastik sintetis yang berbahan baku utama minyak bumi.

Poli-hidroksialkanoat (PHA) dikenal sebagai bioplastik yang ramah lingkungan karena dapat di-degradasi secara biologis di lingkungan. PHA terakumulasi di dalam sel mikroorganisme prokariotik dan berfungsi sebagai sumber karbon dan energi pada kondisi pertumbuhan yang tidak seimbang. karakteristik fisik pha yang mendekati karakteristik plastik sintetis seperti polipropilen, membuka peluang bioplastik ini untuk menggantikan peran plastik sintetis tersebut.

Salah satu kendala dalam pemanfaatan PHA sebagai plastik komersial adalah sifatnya yang kaku dan rapuh. peningkatan karakteristik PHA telah dilakukan dengan penambahan zat aditif seperti pemlastis. pemlastis adalah zat non-volatil yang berfungsi untuk meningkatkan fleksibilitas bahan (Kirk dan Othmer, 1953).

Polioksietilen-(20)-sorbitan monolaurat atau lebih dikenal dengan nama Tween20 merupakan pemlastis dari golongan asam lemak tersubstitusi. sifatnya yang alami dan biodegradabel merupakan alasan utama penggunaannya sebagai pemlastis.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan pemlastis Tween20 pada pencampurannya dengan PHA, mendapatkan konsentrasi penambahan Tween20 yang terbaik berdasarkan sifat elastisitas bioplastik, serta memperkirakan aplikasi yang cocok bagi bioplastik yang dihasilkan.

**METODOLOGI****Bahan dan Alat**

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini antara lain biakan murni *Ralstonia eutropha* IAM 12368, hidrolisat pati sagu, media kultivasi, NaOCl 0,2%, metanol, kloroform, serta Tween20.

Alat-alat yang digunakan untuk kultivasi PHA adalah bioreaktor skala 13 l dengan volume kerja 10 l, autoklaf, pH meter, *waterbath shaker*, *rotary shaking incubator*, sentrifuse, penyaring vakum, termometer, oven, desikator, *freezer*, neraca analitik, *clean bench*, ose bunsen, pendingin tegak, *hotplate*, lemari asap, plat kaca, dan alat-alat gelas.

Peralatan untuk pengujian film/bioplastik yang digunakan meliputi *universal testing machine* (UTM) untuk uji mekanis, *fourier transform infrared* (FTIR) *spectrophotometer* untuk analisa gugus fungsi, dan *differential scanning calorimeter* (DSC) untuk analisa sifat termal.

**Metode Penelitian**

Penelitian ini dibagi menjadi tiga tahap, yaitu tahap persiapan bahan baku biji bioplastik, tahap penelitian pendahuluan serta tahap penelitian utama

**Persiapan Bahan Baku Biji Bioplastik**

Persiapan bahan baku terdiri dari tiga tahap, yaitu persiapan substrat, kultivasi PHA, dan proses hilir PHA.

### **Persiapan Substrat**

Tahap persiapan substrat meliputi proses pembuatan hidrolisat pati sagu secara enzimatis serta persiapan kultur dan media kultivasi (Syamsu et al., 2006)

### **Kultivasi PHA**

Kultivasi PHA dilakukan secara *fed batch* dengan penggunaan bakteri *Ralstonia eutropha* yang dikultivasi pada bioreaktor skala 13 L, volume kerja 10 L. Kultivasi dilakukan selama 96 jam dengan pengumpanan (*feeding*) pada jam ke-48. Proses kultivasi dilakukan berdasarkan penelitian Syamsu et al., (2006).

### **Proses Hilir PHA**

Proses hilir dilakukan untuk memisahkan PHA dari sel bakteri. Proses pemisahan PHA dilakukan dengan metode sentrifugasi. PHA kemudian dimurnikan dengan metode refluks. Hasil akhir proses refluks yaitu serbuk PHA murni (Lee et al., 1999).

### **Penelitian Pendahuluan**

#### **Metode Pembuatan Lembaran Bioplastik**

Proses pembuatan bioplastik dilakukan dengan teknik *solution casting*. Prinsip dasar teknik ini adalah melarutkan polimer pada pelarut yang sesuai untuk membentuk larutan yang kental (*viscous*). Larutan tersebut kemudian dituangkan ke wadah yang rata dan permukaannya non-adhesif, lalu pelarutnya diuapkan. Lapisan film yang sudah kering selanjutnya dilepaskan dari permukaan wadah pencetak (Allcock dan Lampe, 1981).

#### **Penentuan Perbandingan PHA dan Kloroform**

Perbandingan PHA dan kloroform yang digunakan untuk optimasi pelarutan antara lain 1: 15, 1: 20, 1: 25, 1: 30, 1: 35, 1: 40 (b/b). Penentuan perbandingan terbaik ditentukan oleh pelarutan yang sempurna dengan waktu penguapan yang cepat. Perbandingan PHA dan kloroform yang terbaik digunakan dalam penelitian utama.

#### **Penentuan Konsentrasi Pemlastis Tween20**

Konsentrasi pemlastis dihitung berdasarkan jumlah PHA yang digunakan. Penentuan konsentrasi pemlastis Tween20 dibagi menjadi tiga tahap yaitu tahap pertama menggunakan konsentrasi Tween20 10, 20, dan 30%, tahap kedua menggunakan konsentrasi 4, 6, 9, 13, dan 18%, serta tahap ketiga menggunakan konsentrasi 14, 15, 16, dan 17%. Ketiga

tahap itu dilakukan untuk menentukan konsentrasi Tween20 yang mampu membentuk lembaran bioplastik.

### **Penelitian Utama**

#### **Pembuatan Sampel Bioplastik**

Bioplastik yang diuji untuk proses karakterisasi antara lain bioplastik dengan konsentrasi Tween20 0% (sebagai kontrol), 5, 10, dan 15%. Formulasi dengan bahan baku PHA sebanyak 0,25 g dengan perbandingan PHA dan (kloroform + Tween20) sebesar 1 : 35 (b/b), menghasilkan lembaran bioplastik dengan ketebalan  $\pm 0,05$  mm.

#### **Karakterisasi Bioplastik**

Karakterisasi bioplastik yang dilakukan meliputi pengukuran densitas, pengujian sifat mekanis (kekuatan tarik dan perpanjangan putus), analisa gugus fungsi, analisa sifat termal ( $T_m$  dan  $T_g$ ) serta pengukuran derajat kristalinitas.

#### **Densitas (Rabek, 1983)**

Penentuan densitas dilakukan dengan cara menghitung massa dan volume sampel. Densitas bioplastik dapat dihitung dengan persamaan berikut:

$$\rho = \frac{m}{V}$$

Keterangan:

$\rho$  = densitas ( $\text{g/cm}^3$ )

$m$  = massa bahan (g)

$V$  = volume bahan ( $\text{cm}^3$ )

#### **Kekuatan tarik (ASTM D 882-02, 2006)**

Proses pengujian kekuatan tarik dilakukan dengan menggunakan alat *Universal Testing Machine* (UTM) dengan merk Shimadzu AGS-10KNG di Sentra Teknologi Polimer (STP), kawasan Puspipetek, Serpong. Sampel yang akan diuji terlebih dahulu dikondisikan dalam ruang *climatic chamber* dengan suhu dan kelembaban relatif standar ( $23^\circ\text{C}$ , 50%) selama 48 jam.

Hasil pengukuran merupakan hasil rata-rata pengukuran dari 5 lembar sampel. Pengujian dilakukan berdasarkan standar ASTM D 882-02 dengan kecepatan 500 mm/menit. Kekuatan tarik plastik (*tensile strength*) dihitung dengan persamaan berikut :

$$\tau = F_{\max} / A$$

Keterangan:

$\tau$  = kuat tarik (MPa)

$F_{\max}$  = tegangan maksimum (N)

$A$  = luas penampang melintang ( $\text{mm}^2$ )

**Analisa gugus fungsi (Nur dan Adijuwana, 1989)**

Analisa gugus fungsi dilakukan di Departemen Teknik Gas dan Petrokimia, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia. Alat yang digunakan adalah *Fourier Transform Infra-Red Spectroscopy* (FTIR) dengan merk *ATI Mattson*. Sampel film transparan yang akan diuji, dipotong melingkar dengan diameter 10 mm kemudian dianalisa dalam alat.

**Sifat Termal (ASTM D3418-03, 2006)**

Analisa sifat termal meliputi suhu pelelehan (*melting point*,  $T_m$ ) dan suhu transisi gelas (*glass transition temperature*,  $T_g$ ). Analisa dilakukan di Sentra Teknologi Polimer (STP) kawasan Puspitak Serpong. Alat yang digunakan adalah *Differential Scanning Calorimetry* (DSC) dengan merk *Mettler Toledo*. Sampel ditimbang sekitar 20 mg dimasukkan dalam *crucible* 40  $\mu$ l. Pengujian dilakukan berdasarkan standar ASTM D 3418-03. Analisa dilakukan dimulai dengan pemanasan sampel dari suhu (-90°C) hingga 200°C. Kecepatan pemanasan adalah 10°C/menit. Sebagai *purge gas* digunakan gas nitrogen dengan kecepatan aliran 50 ml/menit.

**Derajat kristalinitas (Barham et al. 1984 dan Hahn et al., 1995)**

Pengukuran derajat kristalinitas dilakukan dengan metode pendekatan. Metode ini didasarkan pada perubahan entalpi yang terjadi saat tercapainya suhu pelelehan pada pengukuran suhu pelelehan dengan DSC. PHA dengan derajat kristalinitas 100% mempunyai perubahan entalpi sebesar 146 J/g. Dengan melakukan perbandingan perubahan entalpi sampel uji dan PHA dengan kristalinitas 100% maka akan dapat diketahui derajat kristalinitas sampel uji. Kristalinitas PHA sampel dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

$$X_c = \Delta H_f / \Delta H_o \times 100\%$$

Keterangan:

$X_c$  = kristalinitas (%)

$\Delta H_f$  = entalpi pelelehan sampel (J/g),

$\Delta H_o$  = entalpi pelelehan PHA (PHB) 100% kristalin (146 J/g)

**HASIL DAN PEMBAHASAN****Hasil Penentuan Perbandingan PHA dan Kloroform Tanpa Penambahan Tween20**

Sebelum ditambahkan pemlastis (Tween 20), biji plastik PHA perlu dilarutkan terlebih dahulu dalam kloroform. Tahap penelitian ini bertujuan untuk

menentukan jumlah kloroform yang tepat untuk melarutkan PHA sehingga dapat membentuk lembaran film bioplastik dengan baik.

Perbandingan PHA dan kloroform 1 : 15, 1 : 20, 1 : 25 dan 1 : 30 (b/b) menghasilkan lembaran bioplastik yang tidak sempurna karena jumlah pelarut yang tidak cukup untuk melarutkan PHA yang ada sehingga cetakan tidak seluruhnya tertutupi oleh larutan. Perbandingan 1 : 40 (b/b) menghasilkan lembaran bioplastik yang baik namun memiliki waktu penguapan yang lebih lama daripada perbandingan 1 : 35 karena jumlah kloroform yang lebih banyak. Perbandingan 1 : 35 (b/b) merupakan perbandingan terbaik karena menghasilkan lembaran yang baik dengan waktu penguapan pelarut yang cepat. Hasil penentuan perbandingan PHA dan kloroform dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil penentuan perbandingan PHA dan kloroform

Perbandingan PHA dan kloroform (b/b)	Waktu penguapan pelarut kloroform	Pembentukan lembaran
1 : 15	10 menit	-
1 : 20	19 menit	-
1 : 25	20 menit 30 detik	-
1 : 30	24 menit	-
1 : 35	29 menit 30 detik	+
1 : 40	36 menit	+

Keterangan : (-) = lembaran tidak terbentuk

(+) = lembaran dapat terbentuk

**Pengaruh Konsentrasi Pemlastis Tween20 terhadap Karakteristik Bioplastik yang Dihasilkan**

Hasil penentuan konsentrasi pemlastis Tween20 dapat dilihat pada Tabel 2. Hasil dari ketiga tahap menunjukkan bahwa lembaran bioplastik dapat terbentuk pada konsentrasi Tween20 0-17% sedangkan formulasi dengan konsentrasi di atas 18% tidak dapat membentuk lembaran. Tidak terbentuknya lembaran pada formulasi dengan konsentrasi Tween20 di atas 18% diduga dikarenakan ikatan PHA dengan Tween20 telah mencapai titik jenuh (gugus OH pada PHA telah habis berikatan dengan molekul Tween20), namun masih terdapat molekul Tween20 bebas dalam jumlah berlebih sehingga bioplastik yang dihasilkan sangat lunak, bahkan tidak dapat mengering.

**Karakterisasi Bioplastik**

Bioplastik yang diuji untuk proses karakterisasi antara lain bioplastik dengan konsentrasi Tween20 0% (sebagai kontrol), 5, 10, dan 15%. Pada proses pembuatan bioplastik, diperlukan bahan baku PHA sebesar 0,25 g untuk dapat menutupi

cetakan bioplastik dengan ukuran 45 mm x 150 mm secara sempurna. Lembaran bioplastik yang dihasilkan mempunyai ketebalan  $\pm 0,05$  mm.

Tabel 2. Hasil penentuan konsentrasi pemlastis Tween20

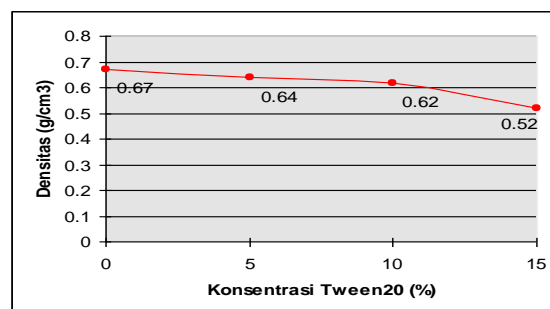
Konsentrasi Tween20		Pembentukan lembaran	Bentuk fisik bioplastik secara visual
Tahap I	10%	+	Berwarna krem, permukaan sedikit basah
	20%	-	-
	30%	-	-
Tahap II	4%	+	Berwarna krem bersih, permukaan licin dan tipis
	6%	+	Berwarna krem bersih, permukaan licin dan tipis
	9%	+	Berwarna krem bersih, permukaan sedikit basah
	13%	+	Berwarna krem, permukaan basah
	18%	-	-
Tahap III	14%	+	Berwarna krem, permukaan basah
	15%	+	Berwarna krem, permukaan basah
	16%	+	Berwarna krem, permukaan basah
	17%	+	Berwarna krem, permukaan basah

Keterangan : (-) = lembaran tidak terbentuk  
(+) = lembaran dapat terbentuk

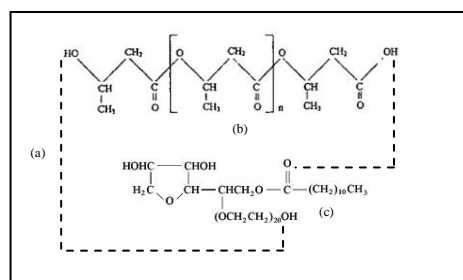
### Densitas Bioplastik

Nilai densitas bioplastik Tween20 0%, 5%, 10%, dan 15% secara berturut-turut yaitu  $0,67 \text{ g/cm}^3$ ,  $0,64 \text{ g/cm}^3$ ,  $0,62 \text{ g/cm}^3$  dan  $0,52 \text{ g/cm}^3$ . Nilai-nilai tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi penambahan konsentrasi pemlastis Tween20 maka semakin rendah densitas bioplastik yang dihasilkan. Hasil densitas bioplastik dapat dilihat pada Gambar 1. Hal itu diduga disebabkan oleh terbentuknya ikatan hidrogen pada saat penambahan pemlastis Tween20.

Ikatan hidrogen menyebabkan struktur rantai polimer semakin berongga. Semakin banyak pemlastis Tween20 yang ditambahkan, semakin banyak ikatan hidrogen yang terbentuk maka struktur polimer semakin berongga, ruangan di antara molekul-molekul akan menjadi lebih besar, sehingga volume bertambah dan densitas pun berkurang. Proses pembentukan ikatan hidrogen antara PHA dan Tween20 diduga terjadi seperti tergambar pada Gambar 2.



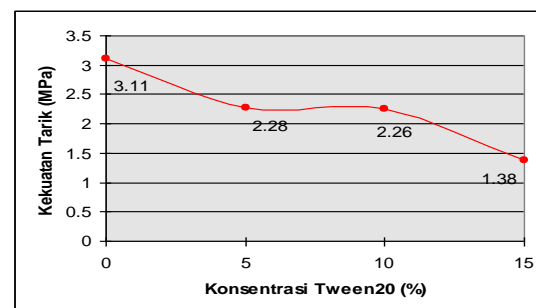
Gambar 1. Grafik hubungan densitas ( $\text{g/cm}^3$ ) dengan konsentrasi Tween20 (%)



Gambar 2. Proses pembentukan (a) ikatan hidrogen antara (b) PHA dan (c) Tween20 (Syarifuddin, 1994)

### Kekuatan Tarik Bioplastik

Grafik hubungan kekuatan tarik dan konsentrasi Tween20 (Gambar 3) juga menunjukkan kecenderungan yang sama dengan grafik densitas. Semakin banyak pemlastis yang ditambahkan maka semakin banyak ikatan hidrogen yang terbentuk. Ikatan hidrogen membentuk ikatan yang lebih lemah dibandingkan dengan ikatan polimer PHA sebelumnya sehingga gaya yang dibutuhkan untuk memutuskan rantai pun semakin sedikit.

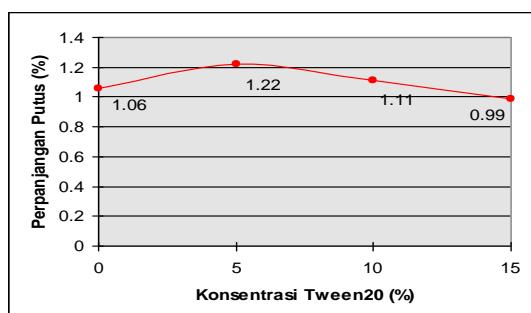


Gambar 3. Grafik hubungan antara konsentrasi Tween20 (%) dengan kekuatan tarik bioplastik (MPa)

### Perpanjangan Putus Bioplastik

Pada grafik hubungan perpanjangan putus dengan konsentrasi Tween20 terlihat bahwa terjadi

peningkatan perpanjangan putus pada konsentrasi Tween20 5% tetapi menurun pada konsentrasi Tween20 10% dan 15%. Hal ini menunjukkan bahwa titik jenuh pembentukan ikatan hidrogen antara PHA dengan Tween20 terjadi pada konsentrasi Tween20 sebesar 5% dimana gugus OH pada PHA telah habis berikatan dengan atom O pada molekul Tween20. Penambahan pemlastis pada konsentrasi 10% menyebabkan bertambahnya molekul bebas dalam bioplastik sehingga pemuluran plastik menjadi terhambat dan perpanjangan putus menjadi berkurang.



Gambar 4. Grafik hubungan perpanjangan putus (%) dengan konsentrasi Tween20 (%)

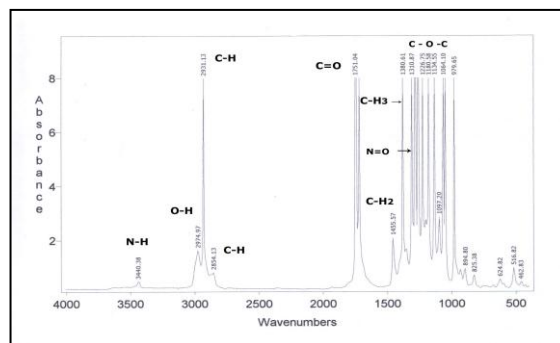
### Analisa Gugus Fungsi

Analisa gugus fungsi bioplastik dilakukan dengan menggunakan FTIR. FTIR adalah salah satu teknik indentifikasi struktur baik untuk senyawa organik maupun senyawa anorganik. Analisa ini merupakan metoda semi empirik dimana kombinasi pita serapan yang khas dapat diperoleh untuk menentukan struktur senyawa yang terdapat dalam suatu bahan.

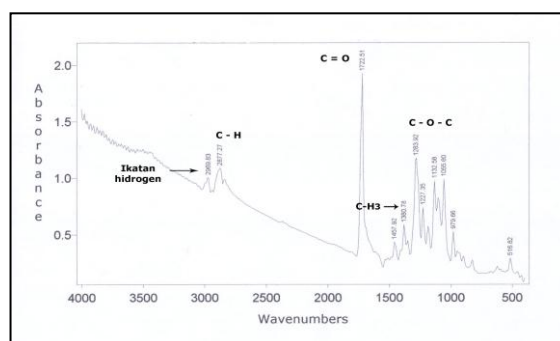
Hasil analisa FTIR bioplastik 0% Tween20 (Gambar 5) menunjukkan adanya gugus-gugus penyusun struktur rantai PHA antara lain gugus ester, OH karboksilat, CH *stretching*, CH<sub>2</sub>, serta CH<sub>3</sub>. Gugus CH<sub>3</sub> menunjukkan bahwa jenis PHA yang terbentuk selama proses kultivasi merupakan jenis PHB (poli-hidroksibutirat).

### Analisa Sifat Termal Bioplastik

Analisa sifat termal meliputi suhu pelelehan (*melting point*, T<sub>m</sub>) dan suhu transisi gelas (*glass transition temperature*, T<sub>g</sub>). Hasil analisa sifat termal (Gambar 6) memperlihatkan bahwa terjadi penurunan titik leleh PHA dari sebelum ditambahkan Tween20 (168,72°C) dengan sesudah ditambahkan Tween20 (163,88°C).

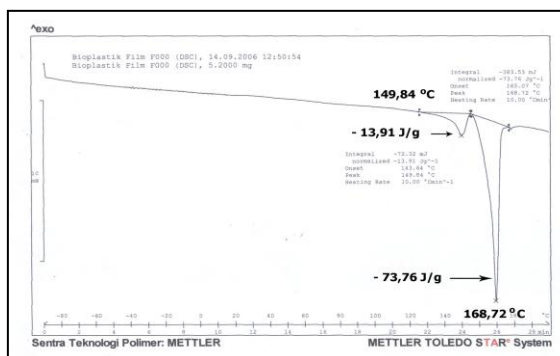


(a)

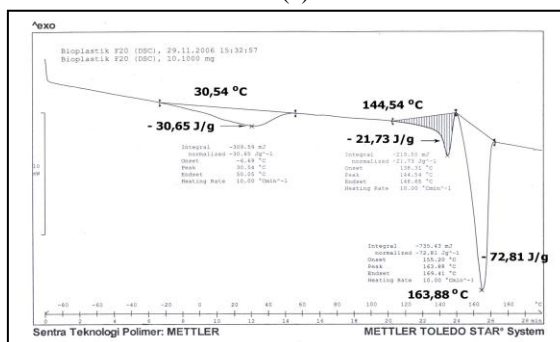


(b)

Gambar 5. Hasil FTIR bioplastik Tween20 0% (a) dan bioplastik Tween20 5% (b)



(a)



(b)

Gambar 6. Hasil analisa termal DSC pada bioplastik 0% Tween20 (a) dan bioplastik 5% Tween20 (b)

Penurunan ini diduga disebabkan oleh ikatan hidrogen yang menyebabkan struktur polimer menjadi lebih amorf sehingga energi yang dibutuhkan untuk melelehkan bahan lebih sedikit dan pada suhu yang lebih rendah. Penurunan titik leleh dapat memperluas rentang antara titik leleh dengan suhu degradasi PHA sehingga pemrosesan dengan metode pelelehan lebih mudah dilakukan.

### **Derajat Kristalinitas Bioplastik**

Derajat kristalinitas memperlihatkan besarnya daerah kristalin pada suatu polimer. Daerah kristalin menyebabkan sifat kaku pada polimer. Derajat kristalinitas yang tinggi menunjukkan daerah kristalin yang besar. Oleh karena itu penurunan derajat kristalinitas polimer menunjukkan penurunan sifat kekakuan pada polimer tersebut. Hasil pengukuran derajat kristalinitas bioplastik dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Derajat Kristalinitas Bioplastik

Bioplastik	Enthapi pelelehan sampel ( $\Delta H_f$ )	Kristalinitas ( $X_c$ )
0% Tween20	73,76 J/g	50,52 %
5% Tween20	72,81 J/g	49,86 %

Hasil pengukuran derajat kristalinitas bioplastik menunjukkan terjadinya penurunan derajat kristalinitas sesudah ditambahkannya pemlastis Tween20. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi penurunan sifat kekakuan pada polimer setelah penambahan pemlastis Tween20 dengan konsentrasi sebesar 5%.

### **KESIMPULAN**

Peningkatan konsentrasi pemlastis Tween20 pada kisaran 0 sampai 15% menyebabkan penurunan densitas dan kekuatan tarik bioplastik. Penambahan Tween20 5% mampu meningkatkan perpanjangan putus PHA dari 1,06% menjadi 1,22%, namun menurun pada penambahan Tween20 sebesar 10% dan 15%.

Berdasarkan data perpanjangan putusnya (elastisitas), karakteristik bioplastik terbaik dihasilkan oleh bioplastik Tween20 5% yang mempunyai densitas 0,64 g/cm<sup>3</sup>, kekuatan tarik 2,28 MPa, perpanjangan putus 1,22%,  $T_m$  163,88°C, serta derajat kristalinitas 49,86%.

### ***Ucapan Terima Kasih***

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kantor Menteri Negara Riset dan Teknologi atas dukungan

dana penelitian melalui Riset Unggulan Terpadu XII tahun 2005-2006.

### **DAFTAR PUSTAKA**

- Allcock, H.R. dan F.W. Lampe. 1981. Contemporary Polymer Chemistry. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey 07632.
- ASTM D 882-02, 2006. Standar Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting. American Society for Testing and Materials (ASTM Int. Standards). <http://webstore.ansi.org> [21 November 2006].
- ASTM D3418-03, 2006. Standar Test Method for Transition Temperatures of Polymers by Differential Scanning Calorimetry. American Society for Testing and Materials (ASTM Int. Standards). <http://webstore.ansi.org> [21 November 2006].
- Barham P.J, Feller A, Otun E.L, Holmes P.A. 1984. Crystallization and Morphology of a Bacterial Thermoplastic: Poly-3-Hydroxybutyrate. J Mater Sci 19(9): 2781-94.
- Hahn, S. K., Chang, Y. K., Kim, B. S., and Chang, H. N. 1995. Optimization of Microbial Poly (3-hydroxybutyrate) Recovery Using Dispersions of Sodium Hypochlorite Solution and Chloroform. *Biotechnology and Bioengineering*. 44, 250-262.
- Kirk, R.E. dan Othmer, D. 1953. *Encyclopedia of Chemical Technology*. The Inter Science Encyclopedia, Inc. New York.
- Lee, S.Y., Choi, J., Han, K., and Song, J.Y. 1999. Removal of Endotoxin During Purification of Poly-3-hydroxybutyrate from Gram Negative Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 65(6):2762-2764.
- Nur, M. A. dan Adijuwana, H. 1989. Teknik Spektroskopi dalam Analisis Biologis. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Pusat Antar Universitas Ilmu Hayat, IPB, Bogor.
- Rabek J.F. 1983. Experimental Methods in Polymer Chemistry, Physical Principles and Applications. New York : A Wiley-Interscience Publication.
- Syarifuddin, N. 1994. Ikatan Kimia. Edisi Pertama. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Syamsu, K., Fauzi, A.M, Hartoto, L., . Suryani, A., and Atifah, N. (2006) Production of PHA (Polyhydroxyalkanoat) by *Ralstonia eutropha* on Hydrolysed Sago Starch as Main Substrate using Fedbatch Cultivation Method. Proceedings of the 1<sup>st</sup> International Conference on Natural Resources Engineering & Technology 2006, Malaysia, pp 153-157.